

1993. – № 2. – С. 8–12.

6. Универсальная энциклопедия лекарственных растений / Сост. И. Путырский, В. Прохоров. – Мн.: Книжный дом; М.: Махаон, 2000. – 656 с.

7. Государственная фармакопея СССР. XI изд. Вып.1. Общие методы анализа. – М.: Медицина, 1987. – 334 с.

8. Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». – 1-е вид. – Х.: РІРЕГ, 2001. – Доповнення 1. – 2004. – С. 520.

9. Бойко, М. М. Обґрунтування схеми розробки аналітичного контролю виробництва фітохімічних засобів, отримуваних за допомогою ультразвуку / М. М. Бойко, О. І. Зайцев // Запорізький медичний журнал. – 2008. – № 4(49). – С. 84–88.

10. Дослідження фенольних сполук листя евкаліпта / О. М. Кошовий [та інш.] // Фармаком. – 2005. – № 2/3. – С. 151–161.

11. Пат. 94510 UA, МПК (2006.1)

G01N 27/26 Спосіб кількісного визначення іонів калію у водно-спиртових витяжках з лікарської рослинної сировини / М. М. Бойко, М. Є. Блажесівський, О. І. Зайцев. u 2014 07449; Заявл. 02.07.2014; Опубл. 10.11.2014, Бюл. № 21. – 5 с.

12. Бойко, М. М. Математичне описання процесу екстракції біологічно активних сполук із рослинної сировини / М. М. Бойко, О. І. Зайцев // Український журнал клінічної та лабораторної медицини. – 2009. – Т. 4, № 1. – С. 38–40.

Адрес для корреспонденции:

61140, Украина,
г Харьков, ул. Невского, 18,
Национальный фармацевтический
университет,
кафедра процессов и аппаратов
химико-фармацевтических производств,
тел. +38(057)7718152,
Boykoniknik@gmail.com
Бойко Н. Н.

Поступила 08.11.2014 г.

Ю. А. Шерякова, О. М. Хишова

ИДЕНТИФИКАЦИЯ И КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ТРИТЕРПЕНОВЫХ САПОНИНОВ СИНЮХИ МЕТОДОМ ВЭЖХ

Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет

Разработана методика идентификации и количественного определения тритерпеновых сапонинов в пересчете на в-эсцин методом высокоэффективной жидкостной хроматографии в корневищах с корнями синюхи и лекарственных средствах на ее основе. Методика валидирована по параметрам линейность, специфичность, правильность. Определен предел ее обнаружения и количественного определения. Воспроизводимость результатов определения биологически активных веществ (БАВ) синюхи составила: в таблетках $RSD = 0,15\%$; в капсулах $RSD = 0,38\%$.

Ключевые слова: таблетки, капсулы, корневища с корнями синюхи, в-эсцин, валидация, высокоэффективная жидкостная хроматография.

ВВЕДЕНИЕ

При разработке лекарственных средств (ЛС) на основе корневищ с корнями синюхи одной из проблем стала стандартизация БАВ синюхи в готовых ЛС. По данным литературы [1–4] преобладающей группой БАВ, содержащейся в синюхе, являются тритерпеновые сапонины. В настоящее время выделено и идентифицировано около 30 индивидуальных веществ, которые

объединяют под названием «эсцин». Основными среди них считаются четыре: эсцин Ia и Ib, изоэсцин Ia и Ib [5].

В последние годы при стандартизации лекарственного растительного сырья (ЛРС) все чаще используют инструментальные методы анализа, такие как тонкослойная хроматография (ТСХ) и высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ) – для идентификации БАВ, денситометрия (ДТСХ), УФ-спектрофотометрия (УФ) [2,

3, 6], ВЭЖХ – для количественного определения [1, 6, 7]. Использование данных физико-химических методов предполагает применение стандартного образца – вещества, имеющего постоянный химический состав, установленного с необходимой точностью комплексом соответствующих методов [7, 8].

Государственная фармакопея Республики Беларусь (ГФ РБ) для идентификации тритерпеновых сапонинов в корневищах с корнями синюхи предлагает метод макро- и микроскопии, а также качественную реакцию пенообразования, а для количественного определения действующих веществ – определение тритерпеновых сапонинов в пересчете на в-эсцин методом УФ-спектрометрии в видимой области спектра, с использованием спирта 40% и хлороформа в качестве экстрагента [1].

Метод идентификации с помощью качественной реакции является групповым и неспецифичным, а метод количественного определения – трудоемким и неспецифичным, так как предполагает образование окрашенных соединений продуктов гидролиза тритерпеновых сапонинов с серной кислотой с дальнейшим их спектрометрическим определением [1].

Целью настоящей работы явилась разработка методики идентификации и количественного определения тритерпеновых сапонинов корневищ с корнями синюхи методом ВЭЖХ с использованием стандартного образца в-эсцина, являющегося маркером при количественном определении БАВ синюхи в присутствии сесквитерпеновых кислот валерианы и вспомогательных веществ, входящих в состав таблеток и капсул.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для анализа в качестве стандартного образца использовали ФСО в-эсцина, реактивы – хлороформ *P*, спирт этиловый 96% *P*, вода *P*, кислота фосфорная *P*, плацебо для таблеток и содержимого капсул (крахмал, кальция стеарат, лактоза) [1, 6].

Объектами исследования были: измельченное сырье корневищ с корнями синюхи (5 серий) с размером частиц 0,1–0,5 мм, таблетки и содержимое капсул (измельченный порошок ЛРС корневищ с корнями валерианы и синюхи (в соотношении 1:1), крахмал, кальция стеарат, лактоза).

Количественное определение БАВ синюхи проводили методом ВЭЖХ на приборе «Agilent 1200 с диодно-матричным детектором».

Разрабатываемые готовые ЛС содержат смесь корневищ с корнями валерианы и синюхи. С целью совместного определения БАВ валерианы и синюхи методом ВЭЖХ для экстракции тритерпеновых сапонинов синюхи за основу была взята методика экстракции БАВ корневищ с корнями валерианы [1]. Однако предварительные данные показали, что использование спирта этилового в качестве экстрагента не подходит для извлечения тритерпеновых сапонинов, а для их извлечения с целью разрушения комплекса сапонинов со стеаринами необходима предварительная стадия обработки ЛРС хлороформом [9].

По сравнению с фармакопейной методикой в предлагаемой методике нами заменены способ обработки хлороформом ЛРС с использованием обратного холодильника на ультразвук, что соответствует современным подходам к извлечению тритерпеновых сапонинов [5], и спирт 40% на спирт 96%, как наиболее подходящий [5, 7].

В ходе предварительных испытаний нами установлено, что для полноты экстракции тритерпеновых сапонинов достаточно по 50 мл хлороформа и спирта 96% с обработкой ультразвуком 30 мин, вместо двукратной экстракции хлороформом (по 50 мл в течение 30 мин) и спиртом 40% (по 50 мл в течение 30 мин).

Ниже описана предлагаемая нами методика определения тритерпеновых сапонинов методом ВЭЖХ.

Аналитическая методика (АМ)

Не менее 8,0 % суммы тритерпеновых сапонинов в пересчете на в-эсцин в сухом сырье [ГФ РБ, т.2].

Приготовление буферного раствора. В 1000,0 мл воды *P* устанавливали pH 3,5 с помощью кислоты фосфорной *P*, доводили объем раствора водой *P* до метки и перемешивали. Полученный раствор фильтровали через мембранный фильтр с размером пор 0,45 мкм.

Приготовление испытуемого раствора. 1,1000 г порошка растертых таблеток или содержимого капсул помещали в мерную колбу вместимостью 100 мл, прибавляли 50 мл хлороформа *P*, выдерживали на ультразвуковой бане в течение 30 мин,

охлаждали полученный раствор до комнатной температуры, фильтровали через ватный фильтр. Фильтр с остатком количественно переносили в колбу со шлифом вместимостью 100 мл, прибавляли 50 мл спирта 96% Р, присоединяли к обратному холодильнику и кипятили в течение 30 минут на водяной бане. Охлажденное до комнатной температуры извлечение помещали в мерную колбу вместимостью 50 мл, доводили спиртом 96% Р до метки и тщательно перемешивали. Необходимое количество полученного раствора фильтровали через мембранный фильтр типа «Миллипор» с диаметром пор 0,45 мкм.

Приготовление раствора стандартного образца. 0,0500 г ФСО в-эсцина помещали в мерную колбу вместимостью 25 мл, добавляли 15 мл спирта 96% Р, выдерживали около 30 минут на ультразвуковой бане, охлаждали полученный раствор до комнатной температуры, доводили объем раствора спиртом 96% Р до метки и перемешивали. Необходимое количество

полученного раствора фильтровали через мембранный фильтр типа «Миллипор» с диаметром пор 0,45 мкм.

По 10 мкл испытуемого раствора и раствора стандартного образца попеременно хроматографировали на жидкостном хроматографе со спектрофотометрическим детектором, получая не менее 3 хроматограмм для каждого из растворов, в следующих условиях:

колонка размером 250×4,6 мм, типа Zorbax SB-C18, заполненная силикагелем октадецилсилильным для хроматографии Р, с размером частиц 5,0 мкм или аналогичная;

скорость подвижной фазы – 0,5 мл/мин;

детектирование при длине волны 210 нм; температура хроматографической колонки – 30 °С;

длительность хроматографирования – 35 мин;

Состав подвижной фазы меняется во времени (таблица 1).

Таблица 1 – Градиентный состав подвижной фазы хроматографирования при определении тритерпеновых сапонинов в пересчете на в-эсцин

Время, мин	Буферный раствор рН 3,5 (% , об/об)	Ацетонитрил Р (% , об/об)
0–30	95	5
30–32	95→40	5→60
32–35	40→95	60→5

Перед проведением анализа уравнивали хроматографическую систему подвижной фазой не менее 30 мин.

Массовую концентрацию суммы тритерпеновых сапонинов в пересчете на в-эсцин (X%) рассчитывали по формуле (1):

$$X\% = \frac{S_1 \cdot m_{CO}^{100\%} \cdot 50 \cdot 100 \cdot b}{S_0 \cdot m_1 \cdot 25} \quad (1),$$

где S_1 – сумма площадей пиков тритерпеновых сапонинов в испытуемом растворе;

S_0 – сумма площадей пиков тритерпеновых сапонинов в растворе стандартного образца;

m_1 – масса навески лекарственного средства, в граммах;

$m_{CO}^{100\%}$ – масса навески стандартного образца в пересчете на 100% содержание, в граммах;

b – средняя масса таблетки (содержимого капсул), г.

Массу навески СО в пересчете на 100% содержание рассчитывали по формуле (2):

$$m_{CO}^{100\%} = m_{CO} \cdot \frac{Q}{100} \cdot \left(1 - \frac{\varphi}{100}\right) \quad (2),$$

где m_{CO} – масса навески СО, в граммах;
 Q – содержание в СО в пересчете на сухое вещество, в процентах;

φ – содержание влаги в СО, в процентах.

Результаты анализа считаются достоверными, если выполняются требования теста «Проверка пригодности хроматографической системы».

Хроматографическая система считается пригодной, если на хроматограммах раствора стандартного образца:

– фактор асимметрии, рассчитанный по пикам тритерпеновых сапонинов, не менее 0,8 и не более 1,5;

– относительное стандартное отклонение площадей пиков, рассчитанное по сумме пиков тритерпеновых сапонинов,

не более 2,0%.

Для обеспечения требований теста «Проверка пригодности хроматографической системы» допускается модификация хроматографических условий в соответствии с ГФ РБ 2.2.46.

Проведена валидация разработанной методики в соответствии с требованиями действующих нормативных документов [6, 10–11], доказана линейность, специфичность и правильность методики, определен предел обнаружения (ПО) – 0,2457 мг/мл и предел количественного определения (ПКО) – 0,8190 мг/мл.

Изучение линейности осуществляли на пяти модельных растворах лекарственной формы, которые готовили с учетом номинальной концентрации ФСО в-эсцина в интервале 80–120%. Каждый раствор хроматографировали трижды по методике, представленной выше. Полученные результаты обрабатывали методом наименьших квадратов для прямой $y_i = bx_i + a$.

Определение правильности аналитической методики проводили на растворах пяти модельных смесей, для каждой из которой далее готовили по 3 испытуемых раствора. Полученные растворы хроматографировали три раза в соответствии с методикой, описанной выше. Количествен-

ное содержание тритерпеновых сапонинов в пересчете на в-эсцин устанавливали как среднее из результатов анализа пятнадцати определений ($n=15$). Данные обрабатывали статистически и сравнивали с критериями по ГФ РБ [6].

Критерий приемлемости: на хроматограмме раствора плацебо не должно быть пиков, совпадающих по временам выхода с пиками эсцин Ia и Ib, изоэсцин Ia и Ib.

Для определения специфичности методики были приготовлены следующие растворы модельных смесей:

- раствор плацебо и раствор ФСО в-эсцина (стандартный образец) готовили в соответствии с методикой, описанной выше;
- раствор для проверки специфичности: смешивали 5,00 мл раствора стандартного образца и 5,00 мл раствора плацебо;
- растворитель (спирт этиловый 96%).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Нами проведен сравнительный анализ содержания тритерпеновых сапонинов в пересчете на в-эсцин по фармакопейной и предлагаемой методикам. Результаты количественного определения представлены в таблице 2.

Таблица 2 – Сравнительные результаты количественного содержания тритерпеновых сапонинов в пересчете на в-эсцин в измельченном сырье корневищ с корнями синюхи по методике ГФ РБ и предлагаемой методике (метод ВЭЖХ)

Серия сырья	Содержание тритерпеновых сапонинов в пересчете на в-эсцин, в % по методике ГФ РБ, т. 2, с. 421	Содержание тритерпеновых сапонинов в пересчете на в-эсцин, в % по предлагаемой методике
I	8,28	8,80
II	8,20	8,89
III	8,40	8,76
IV	8,22	8,85
V	8,35	8,78

Результаты изучения линейности содержания тритерпеновых сапонинов в пересчете на в-эсцин в модельных растворах представлены в таблицах 3, 4.

Построение калибровочного графика проводили в нормализованных координатах (рис. 1) [2].

Результаты анализа модельных растворов и их статистическая обработка представлены в таблице 5.

Специфичность методики определения тритерпеновых сапонинов синюхи в присутствии БАВ валерианы представлена

на рисунках 2, 3, 4, 5.

На полученных хроматограммах времени выхода пиков эсцина Ia и Ib, изоэсцина Ia и Ib соответствуют литературным данным [конский каштан].

Экспериментально установлено, что присутствие сесквитерпеновых кислот валерианы (валереновой и ацетоксивалереновой) и вспомогательных веществ, которые входят в состав лекарственных форм, не мешали определению суммы тритерпеновых сапонинов в корневищах с корнями синюхи и в ЛС на ее основе (рисунок 6).

Времена удерживания пиков эсцина Ia и Ib, изоэсцина Ia и Ib на хроматограммах испытуемого раствора при количественном определении соответствовали временам удерживания пиков эсцина Ia и Ib, изоэсцина Ia и Ib на хроматограммах раствора сравнения и составляли около 24,5 мин для эсцина Ia, около 25 мин для эсцина Ib,

около 25,5 мин для изоэсцина Ia и около 26 мин для изоэсцина Ib (рисунки 4, 6).

С использованием описанной выше методики были получены следующие результаты определения содержания тритерпеновых сапонинов в пересчете на в-эсцин в таблетках и содержимом капсул (таблица 6).

Таблица 3 – Результаты изучения линейности содержания содержания тритерпеновых сапонинов в пересчете на в-эсцин в модельных растворах

n	V _a	V	C _a ² мг/мл	Площади пиков градуировочных графиков			
				S ₁	S ₂	S ₃	S _{ср}
1	3	5	1,1800	6708,8090	6715,5231	6691,6862	6705,3394
2	7	10	1,3767	8698,2412	8618,3210	8619,5975	8645,3866
3	4	5	1,5733	9670,9264	9615,0009	9603,4246	9629,7840
4	9	10	1,7700	10635,8391	10608,2147	10627,3198	10623,7912
5	1	1	1,9667	11625,2607	11602,3657	11608,9416	11612,1893

Таблица 4 – Характеристики линейной зависимости $y_i = bx_i + a$

C _a S _{ср}	ΣS _{ср} C _a	ΣC _a	ΣS _{ср}	C _a ²	ΣC _a ²	S _{ср} ²	ΣS _{ср} ²	(ΣC _a) ²	(ΣS _{ср}) ²
0,9	7,91	0,06	785,30	0,000063	0,000598	11761,5	104697,30	0,003524	616699,23
1,0				0,000077		13332,8			
1,2				0,000091		15446,2			
1,3				0,000099		17091,9			
1,6				0,000124		21014,1			
1,9				0,000143		26050,8			

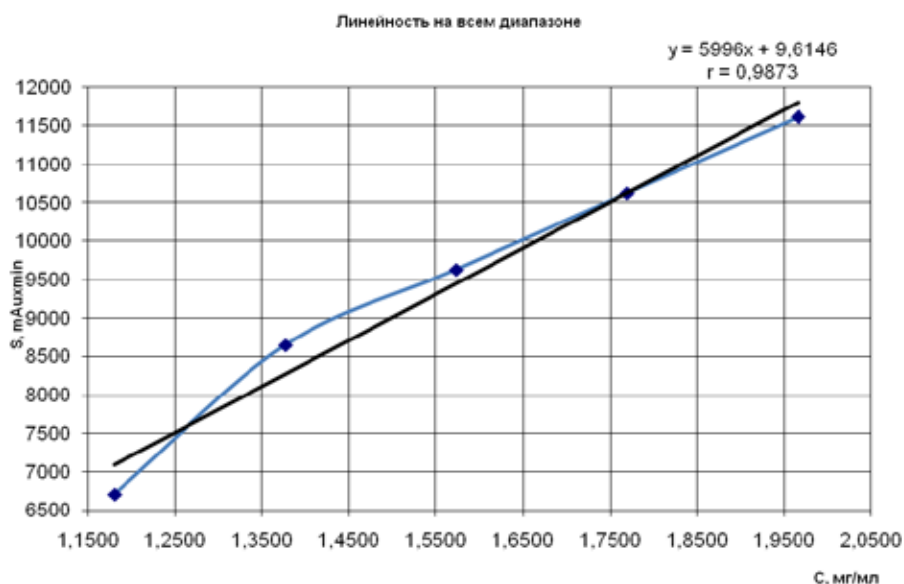


Рисунок 1 – График зависимости площади пика от тритерпеновых сапонинов в пересчете на в-эсцин

Таблица 5 – Результаты анализа модельных растворов и их статистической обработки

№ модельной смеси	1	2	3	4	5
Исходная концентрация, мг/мл	1,1520	1,3440	1,5360	1,7280	1,9200
Полученная концентрация (среднее значение 3-х определений), мг/мл	1,0581	1,3388	1,4290	1,6237	1,7760
Найдено, %	91,9	99,6	93,0	94,0	92,5
Относительная погрешность, %	8,15	0,38	6,96	6,03	7,50
Стандартное отклонение S	0,03129	0,0059	0,0356	0,0424	0,0480
Относительное стандартное отклонение Sr	2,96	0,44	2,49	2,61	2,71
Табличный критерий Стьюдента t (0,95;2)	4,30	4,30	4,30	4,30	4,30
Расчетный критерий Стьюдента t	4,24	1,22	4,24	3,48	4,24
t<t(0,95;2)	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.
Метрологические характеристики	$\bar{x} = 94,2$; $S = 9,204$; $S_{\bar{x}} = 4,12$; $RSD = 9,77\%$; $\Delta\bar{x} = 8,3$; $\bar{\varepsilon} = 8,8\%$				

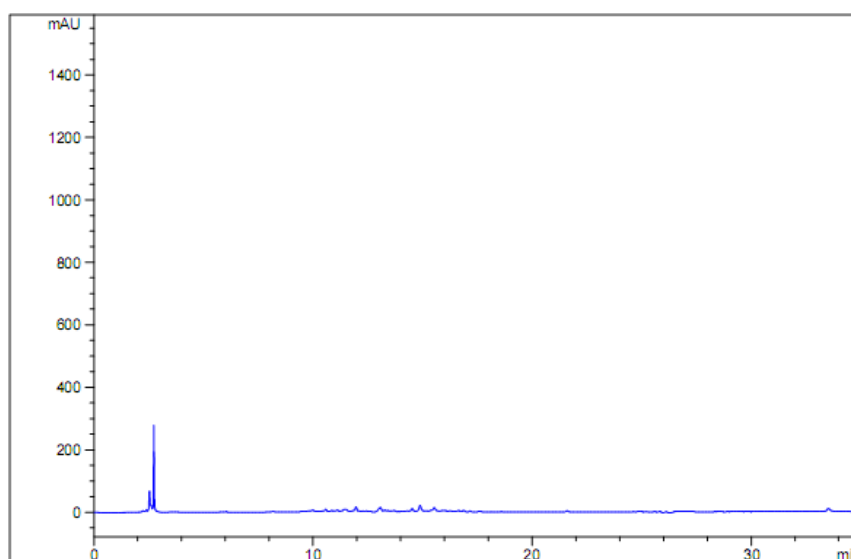


Рисунок 2 – Хроматограмма раствора плацебо

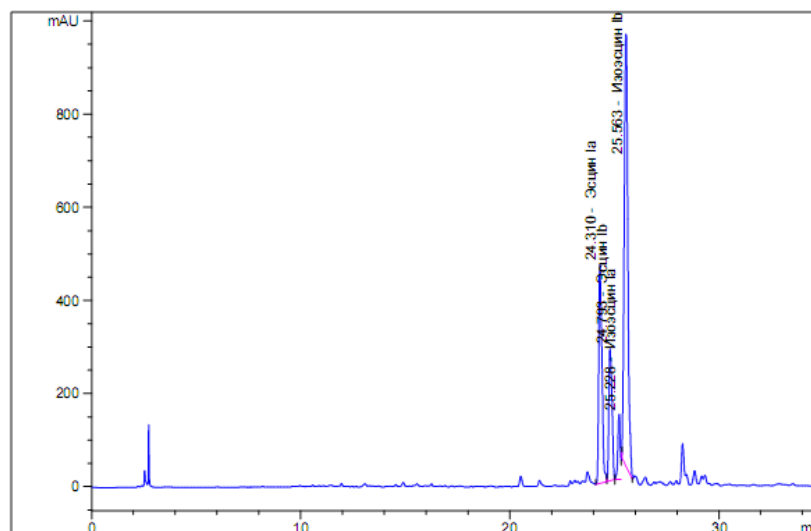


Рисунок 3 – Хроматограмма раствора для проверки специфичности

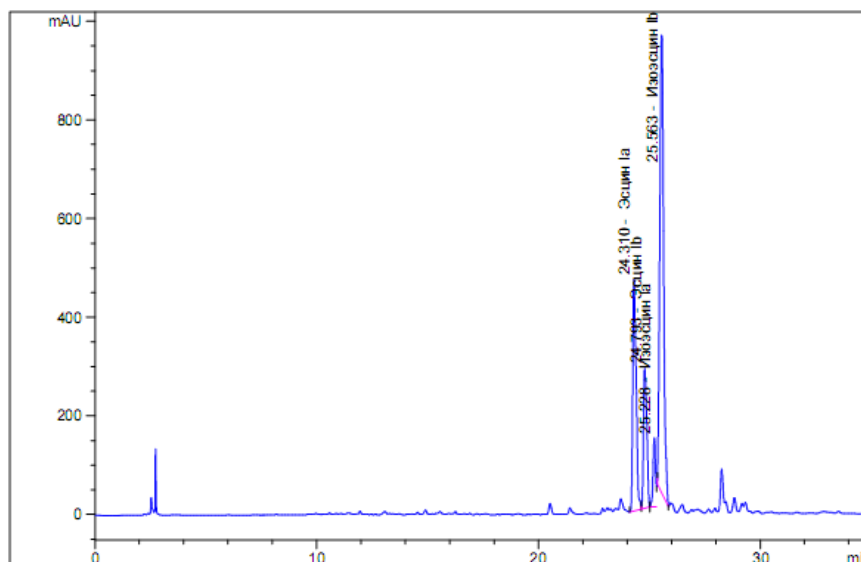


Рисунок 4 – Хроматограмма раствора ФСО сухого экстракта валерианы стандартизированного

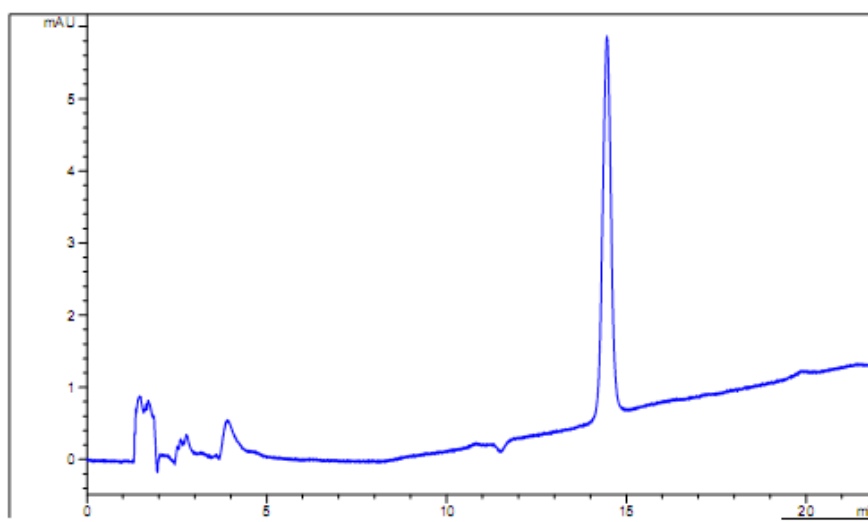


Рисунок 5 – Хроматограмма растворителя (спирт этиловый 96%)

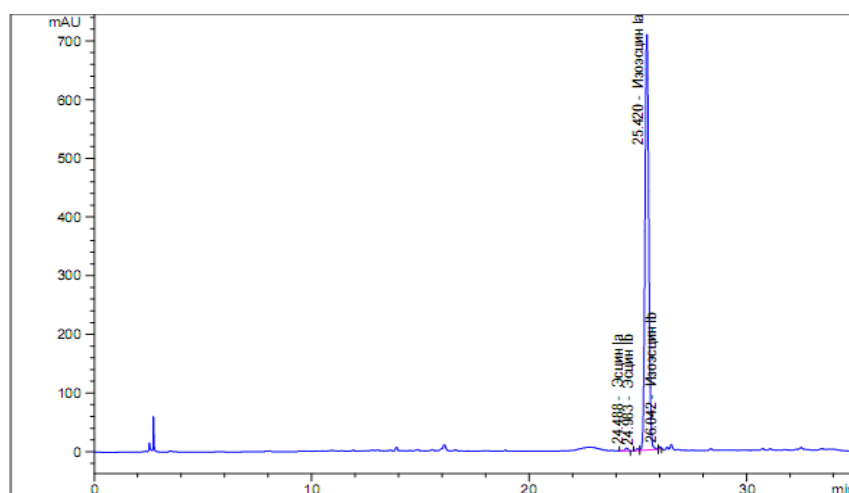


Рисунок 6 – Образец хроматограммы испытуемого раствора (для таблеток и содержимого капсул)

Таблица 6 – Результаты количественного определения тритерпеновых сапонинов в пересчете на в-эсцин в таблетках и капсулах

Анализируемая ЛФ	Сумма площадей пиков тритерпеновых сапонинов в пересчете на в-эсцин в растворе СО	Сумма площадей пиков тритерпеновых сапонинов в пересчете на в-эсцин в испытуемом растворе	Найдено в ЛФ, мг/таб. (капс.)	Метрологические характеристики
Таблетки	8265	8759	2,64	$\bar{x} = 2,63$
	8212	8659	2,62	$S = 0,008944$
	8301	8738	2,62	$S_{\bar{x}} = 0,004$
	8259	8692	2,62	$RSD = 0,15\%$
	8248	8712	2,63	$\Delta\bar{x} = 0,01$ $\bar{\varepsilon} = 0,45\%$
Капсулы	8214	8566	2,70	$\bar{x} = 2,66$
	8310	8497	2,64	$S = 0,02291$
	8314	8551	2,66	$S_{\bar{x}} = 0,0102$
	8279	8538	2,67	$RSD = 0,38\%$
	8305	8517	2,65	$\Delta\bar{x} = 0,03$ $\bar{\varepsilon} = 0,99\%$

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Впервые разработана методика идентификации (подлинности) и количественного определения тритерпеновых сапонинов синюхи в пересчете на в-эсцин методом ВЭЖХ в ЛРС, таблетках и содержимом капсул в присутствии БАВ валерианы (сесквитерпеновых кислот) и вспомогательных веществ (крахмал, кальция стеарат, лактоза) в среде спирта этилового 96% в качестве экстрагента, с предварительной обработкой исходного материала хлороформом.

Установлено, что время удерживания пика эсцина Ia составляет около 24,5 мин, эсцина Ib – около 25 мин, изоэсцина Ia – около 25,5 мин, изоэсцина Ib – около 26 мин. Так как в состав готовых ЛС входит тонко измельченный порошок корневищ с корнями синюхи, данную методику можно использовать для идентификации тритерпеновых сапонинов и в исходном ЛРС.

2. Проведена валидация данной методики, доказана ее линейность, специфичность и правильность. Определены ПО и ПКО, которые составили 0,2457 мг/мл и 0,8190 мг/мл соответственно.

3. Установлено, что для полноты экстракции тритерпеновых сапонинов достаточно по 50 мл хлороформа и спирта этилового 96% в течение 30 минут, вместо двукратной экстракции хлороформом (по 50 мл в течение 30 мин) и спиртом 40% (по

50 мл в течение 30 мин).

4. Данная методика использована для составления спецификации по контролю качества таблеток и капсул на основе тонко измельченных порошков корневищ с корнями валерианы и синюхи. Воспроизводимость результатов определения БАВ синюхи составила: в таблетках $RSD=0,15\%$, в капсулах $RSD=0,38\%$.

SUMMARY

Y. A. Sheryakova, O. M. Khishowa IDENTIFICATION AND QUANTITATIVE DETERMINATION OF TRITERPENE SAPONINS OF *POLEMONIUM* *CAERULEUM* BY HPLC

The technique of identification and quantitative determination of triterpene saponins in terms of β -escin by high-performance liquid chromatography in the rhizomes with roots of *Polemonium caeruleum* and medicinal products based on it was worked out. The method is validated according to the parameters of linearity, specificity, accuracy. The limit of its detection and quantification was determined. The reproducibility of the results of determination of biologically active substances of *Polemonium caeruleum* was: for tablets $RSD=0,15\%$; for capsules $RSD=0,38\%$.

Keywords: tablets, capsules, rhizomes with roots of *Polemonium caeruleum*, β -escin, validation, high-performance liquid chromatography.

ЛИТЕРАТУРА

1. Государственная фармакопея Республики Беларусь : в 3-х т. / под общ.ред. А.А. Шерякова. – Молодечно : Победа. – 2008. – Т. 2: Контроль качества вспомогательных веществ и лекарственного растительного сырья. – 472 с.
2. Исследование возможности количественного определения тритерпеновых сапонинов методом УФ-спектрофотометрии / Т. А. Брежнева [и др.] // Вестник ВГУ, Серия: Химия. Биология. Фармация. – 2007. – № 2. – С. 142–144.
3. Методологические подходы к использованию спектрофотометрии в анализе лекарственного растительного сырья / А. И. Марахова [и др.] // Медицина и образование в Сибири [Электронный ресурс]. – 2011. – № 5. – Режим доступа: <http://www.ngmu.ru/cozo/mos/site/pay/3.php>
4. Шерякова, Ю. А. Изучение факторов, влияющих на процесс извлечения БАВ синюхи / Ю. А. Шерякова // III Всероссийская научная конференция студентов и аспирантов с международным участием «Молодая фармация – потенциал будущего»: сборник матер. конф., Санкт-Петербург, 25 – 26 апреля 2013 г. / С.-Петерб. гос. хим.-фарм. академ. – СПб.: Изд-во СПХФА, 2013. – 384 с.
5. Совершенствование методов контроля качества и критериев стандартизации качества семян и сухого очищенного экстракта из семян конского каштана обыкновенного (*Aesculus Hippocastanum*L.) / Т. Б. Шемерянкина [и др.] // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. – 2012. – № 3. – С. 3–10.
6. Государственная фармакопея Республики Беларусь : в 3-х т. / под общ.ред. А.А. Шерякова. – Молодечно : Победа. – 2012. – Т. 1 (II): Общие методы контроля качества лекарственных средств. – 1217 с.
7. Сокольская, Т.А. Использование стандартных образцов для анализа лекарственных растительных препаратов / Т. А. Сокольская, Т. Б. Шемерянкина, Т. Д. Даргаева // Вестник НИЦЭСМП. – 2011. – № 2. – С. 11–14.
8. Шеряков, А. А. К вопросу применения стандартных образцов в испытании лекарственных средств / А. А. Шеряков, А. П. Левченко, В. П. Грибанова // Вестник фармации. – 1998. – № 4. – С. 14–17.
9. Ладыгина, Е. Я. Химический анализ лекарственных растений: учеб.пособ. для фарм. вузов / Е. Я. Ладыгина, Л. Н. Сафронич, В. Э. Отряшенкова; под. ред. проф. Н.И. Гринкевич, доц. Л.Н. Сафронич. – Москва «Высшая школа», 1983. – 176 с.
10. Производство лекарственных средств. Валидация методик испытаний : ТКП 432–2012 (02041) – Введ. 01.03.2013. – Минск : Департамент фармацевтической промышленности Министерства здравоохранения Республики Беларусь, 2012. – 18 с.
11. Производство лекарственных средств. Применение статистических методов валидации: ТКП 438 – 2012 (02041) – Введ. 01.03.2013. – Минск : Департамент фармацевтической промышленности Министерства здравоохранения Республики Беларусь, 2012. – 27 с.

Адрес для корреспонденции:

210023, Республика Беларусь,
г. Витебск, пр. Фрунзе, 27,
УО «Витебский государственный
ордена Дружбы народов
медицинский университет»,
кафедра промышленной технологии
с курсом ФПК и ПК,
тел. раб.: 8 (0212) 37-00-13,
Хишиова О. М.

Поступила 08.11.2014 г.